Lane Medical Library
STANFORD UNIVERSITY
JUL
25
1939
LIBRARY

Aus dem Institut für tierärztliche Nahrungsmittelkunde
der Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. R. Standfuß

Vergleichende Untersuchungen über den Wert von Brillantgrün-Phenolrot- und Malachitgrünagar für den Fleischvergifternachweis bei primärer Aussaat

Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Ludwigs-Universität
zu Gießen

vorgelegt von

Werner Herbert
aus Mülheim (Ruhr)

Gießen 1937

Druck: von Münchowsche Universitäts-Druckerei Otto Kindt GmbH in Gießen

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinär-medizinischen Fakultät zu Gießen.

Berichterstatter: Prof. Dr. Standfuß.

Prof. Dr. Krause.

Inhaltsübersicht

Seite

A. Einleitung und Schrifttum 5

B. Zweck der vorliegenden Arbeit 12

C. Nährböden 13

D. Eigene Versuche und ihre Ergebnisse 15

a) Versuche mit Bakterienaufschwemmungen 15

1. Versuche mit Koli-Fleischvergiftergemisch 15

2. Versuche mit Proteus-Fleischvergiftergemisch 24

3. Versuche mit Kokken 27

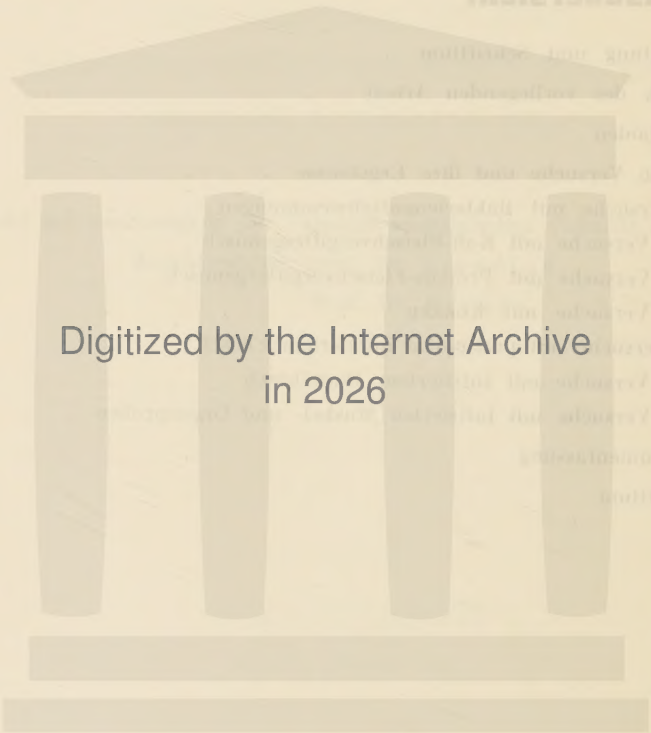
b) Versuche mit postmortal infiziertem Fleisch 27

4. Versuche mit infiziertem Hackfleisch 27

5. Versuche mit infizierten Muskel- und Organproben . . . 30

E. Zusammenfassung 34

F. Schrifttum 37



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154009_0275

A. Einleitung und Schrifttum

Das Vorhandensein bzw. Nichtvorhandensein von Fleischvergiftern in den zur Untersuchung eingesandten Proben festzustellen, ist eine der wichtigsten und verantwortungsvollsten Aufgaben der bakteriologischen Fleischbeschau. Fast jeder der untersuchten Tierkörper erweist sich mindestens in irgendeinem Teil als keimhaltig. Seltener zwar der Tierkörper an sich. Aber die Organe, besonders Leber und Galle, haben nahezu ausnahmslos einen mehr oder weniger hohen Keimgehalt. Sozusagen regelmäßig handelt es sich dabei um Kolibakterien oder Kokken, wozu dann besonders bei in der warmen Jahreszeit versandten Proben noch Fäulniskeime kommen (Bact. proteus vulgare, Bac. mesentericus u. a.).

Zum Nachweis etwaiger Fleischvergifter sind schon seit Jahren in der bakteriologischen Fleischbeschau unverändert die gleichen farbigen Auslesenährböden nach v. Drigalski-Conradi, nach Gaßner und nach Endo gebräuchlich und zum Teil auch amtlich vorgeschrieben. Neben geringen elektivhemmenden Eigenschaften haben sie den besonderen und unschätzbaren Vorzug, die beinahe in jeder Probe vorkommenden Kolibakterien gegenüber den Bakterien der Salmonella-Gruppe, die sich beide morphologisch nicht sicher unterscheiden lassen, durch verschiedene Farbreaktionen zu kennzeichnen. Bekanntlich beruht diese Tatsache auf dem unterschiedlichen biochemischen Verhalten der beiden Bakterienarten gegenüber Kohlehydraten, insbesondere Milchzucker. Milchzucker wird stets von allen Koliarten unter Bildung von Säuren (Essig-, Propion-, Ameisen- und Milchsäure) und Azetaldehyd gespalten, und der vorher neutrale Nährboden nimmt im Bereich der Kolikolonien somit eine saure Reaktion an. Die Salmonellaarten vermögen dagegen Milchzucker nicht anzugreifen und wachsen daher alkalisch, da bei Bakterienwachstum allgemein eine gewisse Menge Alkali gebildet wird.

Grundsätzlich sind diese Nährböden im Wert im allgemeinen einander gleich und keiner dem anderen wesentlich überlegen, wenn auch der eine Untersucher diesen, der andere jenen bevorzugt.

Dem außerordentlich wertvollen und die Diagnose bequem gestaltenden Vorteil der bunten Platten, Fleischvergifter und Koli farbig zu unterscheiden, stehen aber auch wieder gewisse Mängel und Nachteile gegenüber. Die hemmende Wirkung gegenüber Begleitbakterien ist begrenzt. Koli- und Proteusarten und viele Kokken wachsen besonders auf Conradi-, Drigalski- und auf Endo-Agar mindestens ebensogut wie Fleischvergifter. Bei stark keimhaltigem Ausstrich besteht die Gefahr, daß durch die üppig wuchernden Begleitbakterien und Fäulniskeime etwa vereinzelt gewachsene Fleischvergifterkolonien nicht klar angezeigt und übersehen werden. In der warmen Jahreszeit erhöht sich diese Gefahr noch besonders stark.

Um diesem erheblichen Mangel zu begegnen oder ihn wenigstens zu vermindern, wurde der Malachitgrünagar nach Löffler für den ständigen Gebrauch in der bakteriologischen Fleischbeschau vorgeschlagen und dann auch in der amtlichen Anweisung für die bakteriologische Fleischuntersuchung gemäß Anlage 4 BB.A vorgeschrieben. Über seinen Wert wird verschieden geurteilt. Zweifelsfrei steht fest, daß sein Hemmungs- und Auslesevermögen gegenüber Begleitbakterien aller Art außerordentlich groß ist und das der üblichen Buntplatten weit übertrifft. In neuerer Zeit liegen einige günstige Berichte über seinen Wert vor, so von Schönberg (7) und von Standfuß (9).

Nach Schönberg (7) (1934) hat sich für die Hemmung der Nebenkeime bei Vergleichsversuchen mit verschiedenen Nährböden, z. B. mit Zusatz von Türkisblau, Akridinrot und Pikrinsäure, der Malachitgrünagar nach Löffler als am besten brauchbar erwiesen. Dieser arbeitet ausgezeichnet elektiv für Fleischvergifter. In Vergleichsbeimpfungsversuchen wurden auf dem Malachitgrünagar Fleischvergifterkolonien klar und einzeln gesehen, während die aus dem gleichen Ausgangsmaterial angelegten Drigalski- und Gaßnerplatten völlig von Bact. coli bzw. von Bact. proteus überwuchert waren, so daß einzelne Fleischvergifterkolonien nicht mehr als verdächtig erkannt wurden. Der Malachitgrünagar nach Löffler hemmt die gewöhnlichen Arten des Bact. coli, des Bact. proteus, Mikrokokken und viele andere Keime stark. Bei den laufenden Untersuchungen anläßlich der bakteriologischen Fleischbeschau zeigte sich die Überlegenheit des Malachitgrünagars bei Vorliegen stark keimhaltigen Materials oft. Vorausgesetzt, daß der Malachitgrüngehalt im Malachitgrünagar nach Löffler durch Vorprüfung richtig gewählt worden ist, zeigen sich die Fleischvergifterkolonien auf diesen Nährböden klar und typisch. Selbstverständlich sind die Gaßner- und Dri-

galski-Nährböden, die Fleischvergifter durch besonderen Farbausschlag anzeigen, bequemer. Die genügende Sicherheit wird aber erst erreicht, wenn man neben diesen Auslesenährböden einen Malachitgrünagar mit genügendem Hemmungsvermögen für Nebenkeime benutzt. Zusammenfassend stellt Schönberg sich auf den Standpunkt, daß in der bakteriologischen Fleischuntersuchung die Verwendung des Malachitgrünagars nicht entbehrt werden kann, damit in allen Fällen, in denen die Proben stark mit Nebenkeimen, z. B. Koli- oder Proteusbakterien, durchsetzt sind, vorhandene Fleischvergifter mit Sicherheit schon im Ausstrichverfahren festgestellt werden können.

Standfuß (9) (1936) weist auf folgende Beobachtung hin, die gar nicht selten von ihm gemacht worden ist: Sät man aus einem Koli-Fleischvergiftergemisch, das in Tetrathionat-Bouillon verbracht ist, auf eine Malachitgrünplatte und eine andere bunte Platte aus, so kann es vorkommen, daß bei der Malachitgrünplatte Fleischvergifter in Reinkultur wachsen, während auf der anderen Platte Kolibakterien in Reinkultur aufgehen. Hier hat also die hemmende Wirkung des Tetrathionats die Kolibakterien noch nicht vernichtet, sondern nur geschädigt, und zwar so weit geschädigt, daß sie in der Tetrathionat-Bouillon durch die Fleischvergifter noch nicht unterdrückt und überwuchert sind, und daß bei Aussaat auf die stark auslesend wirkende Malachitgrünplatte nunmehr erst die Kolibakterien vollständig unterdrückt werden und die Fleischvergifter rein und ungehindert zur Entwicklung kommen. Diese zusätzliche Auslesewirkung der Malachitgrünplatte ist so wesentlich, daß auf sie nicht verzichtet werden darf, sondern zur Aussaat aus der Tetrathionatanreicherung stets eine Malachitgrünplatte zu verwenden ist.

Andererseits sind die Mängel des Löfflerschen Malachitgrünagars nicht unerheblich:

1. die Notwendigkeit bzw. Schwierigkeit, jede neue Farbstoffprobe erst auswerten zu müssen, da die Wirksamkeit des Malachitgrüns bei verschiedenen Operationsnummern desselben Präparates, ja selbst in einer und derselben Farbstoffpackung zu verschiedenen Zeiten verschieden sein kann, und

2. vor allem das Fehlen jedes kennzeichnenden Farbunterschiedes gegenüber gewissen Kolibakterien, von denen es immer wieder Stämme gibt, die dem Malachitgrünfarbstoff gegenüber noch resistent sind. Es erweist sich daher als notwendig, alle auf Malachitgrünagar gebrachten Kolonien serologisch durch Objektträgeragglutination zu prüfen, da sich ja verdächtige und unver-

dächtige Keime rein morphologisch und der Farbe nach nicht unterscheiden.

Aus zeitlichen Gründen dürfte im praktischen Untersuchungsgang die serologische Prüfung nur einer beschränkten Zahl von Einzelkolonien (etwa 10—15) durchführbar sein. Bei negativem Ausfall derselben könnten dann bei der Malachitgrünplatte unter Umständen vereinzelt gewachsene Fleischvergifterkolonien übersehen werden.

Asche (1) (1936) wurde durch die Beobachtung des unerwünschten Bakterienwachstums auf der Malachitgrünplatte veranlaßt, der Ursache des Wachstums, das ja vermieden werden sollte, nachzugehen, eine genaue Differenzierung dieser malachitgrünfesten Keime vorzunehmen, und die daraus sich ergebenden Schlußfolgerungen zu ziehen. Er kam zu folgenden Ergebnissen:

1. Auf den Malachitgrün-Agarplatten nach Löffler sind trotz Austitrierens gegenüber Bact. coli häufig malachitgrünfeste Keime ermittelt worden, die bei näherer Untersuchung entweder reine Kolistämme darstellten oder größtenteils der Koliintermediusgruppe angehörten oder sich als andere ubiquitäre Bakterien (Bact. pyocyaneum) erwiesen.

2. Da die Malachitgrünfestigkeit der Kolibakterien verschieden ist, muß die Eigenschaft des zum Austitrieren zu verwendenden Kolistammes genauer festgelegt werden. Es empfiehlt sich, einen Stamm hierzu zu verwenden, der möglichst malachitgrünresistent ist, jedoch in geringeren Malachitgrünkonzentrationen gehemmt wird, als die Fleischvergifter. Das Bact. coli ist bei der Einstellung der Malachitgrünplatte zu entbehren, wenn man lediglich den Endtiter der Fleischvergifter berücksichtigt. Eine absolute Wachstumshemmung von Begleitbakterien wird sich durch die Malachitgrünplatte nicht erreichen lassen, da es Koli- bzw. Intermediusstämme gibt, die dem Farbstoff gegenüber resistenter sind als die Fleischvergifter.

3. Um die Sicherheit der bakteriologischen Untersuchung zu erhöhen, ist es nötig, neben der Malachitgrünplatte bei Abimpfung der Anreicherungsflüssigkeit stets noch eine bunte Platte zu verwenden, die Farbunterschiede der gewachsenen Keime zu erkennen gibt.

Als ideal, d. h. nach allen Richtungen hin befriedigend, kann also die Malachitgrünplatte keineswegs angesehen werden. Einen besseren Nährboden in Bezug auf Auslesefähigkeit gab es aber bis heute nicht, so daß wohl oder übel seine Unbequemlichkeiten oder Nachteile mit in Kauf genommen werden mußten. Seine

Vorteile waren auf der anderen Seite so groß, daß in Verbindung mit den Buntplatten und dem Anreicherungsverfahren ein außerordentlich hoher und praktisch ausreichender Grad der Sicherheit des Fleischvergifternachweises erreicht wurde. Als recht wertvoll und besonders geeignet erwies sie sich insbesondere bei Lebensmitteluntersuchungen stark bakterienhaltigen Fleisches und Hackfleisches und außerdem bei Kotuntersuchungen.

Wünschenswert wäre nun ein Nährboden, der den Vorteil der bunten Platten, Kennzeichnung der Fleischvergifter durch besonderen Farbausschlag, und den der Malachitgrünplatte, gute Auslesefähigkeit und starkes Hemmungsvermögen gegenüber Begleitbakterien, mindestens ebenso gut und zugleich in sich vereinigt.

In neuerer Zeit haben nun Schönberg und Wiidik einen solchen Nährboden für die bakteriologische Fleischuntersuchung empfohlen; als hemmender Farbstoff ist hierbei Brillantgrün, als Farbenindikator Phenolrot gewählt. Im Schrifttum finden sich schon recht früh Angaben über günstige Erfahrungen mit Brillantgrün.

Nach Killian (4) (1924) ist ein Anreicherungsverfahren mit Brillantgrün-Bouillon als alleiniges Verfahren für die Erreger der Paratyphusgruppe einschließlich des Paratyphus A zu empfehlen, ferner für Typhus zur Züchtung aus dem Urin, nicht aber aus dem Stuhl.

Kristensen, Lester und Jürgens (5) (1925) empfehlen die Herstellung von Nährböden aus trypsinverdautem Kasein. Neben anderen Farfstoffnährböden läßt sich auch Brillantgrün- und Malachitgrünagar mit der Kasein-Bouillon herstellen. Die pH wird mit Milchsäure auf 6,6—6,8 eingestellt. Die Farbstoffmenge muß ausprobiert werden, (etwa 30 ccm einer 0,5%igen Brillantgrünlösung). Durch Zusatz einer Lösung von je 10 g Laktose und Saccharose in 0,2%iger Lösung von Phenolrot in n/100NaOH resultiert ein Nährboden, auf dem die stark Alkali bildenden Paratyphuskolonien rot wachsen, während Kolikolonien das Grün dunkler färben.

Nach Rakieten, Morris und Rettger (6) (1927) hat bei der Isolierung von Typhusbazillen aus Fäzes und bei der Identifizierung von Typhusbazillen und Bazillenträgern das Brillantgrün-Anreicherungsmedium, verbunden mit modifiziertem Endoagar (Robinson-Rettger), bessere Resultate erzielt als direktes Kultivieren auf Endoagar, Eosin-Methylenblau- oder Brillantgrünagar. Die günstigsten Verdünnungen von Brillantgrün liegen zwischen 1 : 165 000 und 1 : 500 000, in diesen wird das Wachstum

von Kolibaz. gehemmt, während sich Typhusbaz. gut entwickeln bei genügendem Zusatz von Phosphaten, um das Medium sauer zu erhalten (unter pH 7,0). Als bestes Brillantgrün erwies sich das von Grübler.

Verge und Thieulin (10) (1931) beschreiben ihre Versuche mit Brillantgrün als Zusatz zu gewöhnlicher Bouillon in einer Mischung 1 : 50 000. Sie fanden neben günstigem Wachstum der Bazillen der Typhus-Paratyphus-Gruppe Hemmung der Begleitbakterien mit Ausnahme des B. pyocyaneus und des B. fluorescens. Nach ihren Untersuchungen haben Typhuskolonien einen grünen Farbton, Paratyphuskolonien einen grüngelben Farbton, während B. pyocyaneus und B. fluorescens nach 24 Stunden blaue Kolonien bilden.

Nach Jones (2) (1936) wachsen B. typhi und die Organismen der Typhusgruppe reichlich auf Brillantgrün-Eosin-Laktose-Agar bei Farbstoffkonzentrationen, die das Wachstum von B. coli hindern. Verschiedenheit des Eosinzusatzes ändert beträchtlich die hemmende Wirkung von Brillantgrün, während die beiden untersuchten Arten von Brillantgrün nur eine gering unterschiedliche Hemmungswirkung auf das Koliwachstum aufweisen. Die verschiedenen Kolistämme zeigten in ihrer Farbstoffwiderstandsfähigkeit ein verschiedenes Verhalten, doch waren alle untersuchten Stämme empfindlicher als Typhusbaz. Bei zunehmender Beimpfung wird ein Punkt erreicht, wo die Farbstoffkonzentration zur vollständigen Verhinderung des Koliwachstums nicht ausreicht. B. typhi findet sich nach Impfung auf sterilisierten oder nicht sterilisierten Aufschwemmungen von Stuhlgang ohne Zahlenverlust auf Farbstoffplatten wieder. Von den untersuchten Bakterien wurden B. typhi, B. paratyphi A et B, B. newport, B. aertrycke, B. enteritidis (Gaertner), B. senftenberg var. newcastle und B. aerogenes nicht durch das Farbstoffmedium behindert, B. dysenteriae Sonne und Proteus vulgaris wurden z. T. behindert und B. coli, B. dysenteriae Shiga und Flexner, B. morgani und Streptokokkus faecalis wurden stark behindert. Natriumtetrathionatnährböden erwiesen sich als geeignetstes flüssiges Anreicherungsmedium für Typhusbazillen, während Dysenteriebazillen darauf vollständig im Wachstum gehemmt werden. Der gemischte Gebrauch beider Nährböden erwies sich für die Isolierung von Organismen der Typhus- und Paratyphus-Gruppe aus Stuhlgang und Urin Erkrankter sehr geeignet.

Kauffmann (3) (1937) berichtet über kombinierte Anreicherungsverfahren für pathogene Darmbakterien und erwähnt dabei auch den von ihm abgeänderten Brillantgrün-Phenolrotagar

nach Kristensen, Lester und Jürgens, mit dem er günstige Erfahrungen machen konnte. (Die Brillantgrünkonzentration wurde von ihm von 30 ccm auf 1,5 ccm einer 0,5proz. Lösung je Lit. erniedrigt.) U. a. fand er die Brillantgrün-Phenolrotplatte der Gaßnerplatte an Elektivität und Differenzierfähigkeit deutlich überlegen. Die Ausbeute an Paratyphus B und Enteritisbakterien wurde durch Anwendung der Brillantgrün-Phenolrotplatte erheblich gesteigert.

Schönberg und Wiidik (8) (1937) benutzten zu ihren Versuchen den Brillantgrün-Phenolrotagar nach M. Kristensen, Lester und Jürgens in der von Kauffmann (3) angegebenen Form. Sie prüften ihn zunächst gegenüber den üblichen Auslesenährböden, wie Malachitgrünagar nach Löffler, Wasserblau-Metachromgelb-Agar nach Gaßner und Lackmus-Laktose-Agar nach v. Drigalski-Conradi und konnten feststellen, daß er diese Nährböden an Auslesevermögen für Fleischvergifterbakterien übertraf. Sämtliche von ihnen geprüften Stämme von Mikrokokken, Bac. mesentericus, Bact. coli und Bact. proteus wurden auf ihm entweder vollkommen oder stark gehemmt. Dagegen zeigten alle geprüften Stämme aus der Paratyphus-Enteritis-Gruppe gutes Wachstum. Die Fleischvergifterkolonien waren durch einen intensiv roten Farbausschlag gekennzeichnet, der bei einzelnen Kolonien bläulichrot war. Vereinzelt gewachsene Kolonien von Bact. coli waren grün. Weiter unterzogen sie den Brillantgrün-Phenolrotagar einer Serie der verschiedenartigsten Prüfungen, indem sie ihn mit Bakteriengemischen in flüssigen Medien (Bouillon, Kochsalzlösung, Wasser) beschickten, in denen neben einem starken Gehalt an Fäulniskeimen (Coli, Proteus, Mesentericus und Mikrokokken) verschiedene Stämme von Bakterien der Enteritisgruppe im Verhältnis von 1 : 10 bis 1 : 1000 beigemengt waren. Ferner bestrichen sie den Nährboden mit Material aus fauligen Hackfleischproben, die neben großen Mengen von Fäulniskeimen Fleischvergifter verschiedenen Ursprungs in geringer Anzahl enthielten. Bei diesen Versuchen gelangten stets alle früher angeführten Buntplatten als Kontrollen zur Verwendung. Die starke Überlegenheit des Brillantgrün-Phenolrotagars gegenüber den anderen Buntplatten und speziell gegenüber dem Malachitgrünagar war nicht zu verkennen, besonders da der Malachitgrünagar keinen Farbausschlag liefert und weniger elektiv ist, da einige Kolistämme auf ihm trotz genauer Einstellung wachsen und nur durch die Probeagglutination der Beweis dafür erbracht werden kann, ob es sich um echte Fleischvergifter handelt oder um nicht gehemmte Sa-

prophyten. Mit Rinder- und Pferdekotaufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung, welche Fleischvergifter enthielten, war es ihnen möglich, auf Brillantgrün-Phenolrotagar von der primären Aussaat stets eine Reinkultur zu erhalten. Um das Arbeiten des Brillantgrün-Phenolrotagars unter möglichst ungünstigen Bedingungen kennen zu lernen, beschickten sie ihn mit einer Reihe vollkommen fauliger Organproben und zersetzten Wurstmaterials. Nach Ausstreichen wurden sämtliche Buntplatten an bezeichneten Stellen in gleicher Weise und Zahl mit Fleischvergiftern beimpft unter Benutzung einer Platinnadel. Auch bei diesen Versuchen war der Brillantgrün-Phenolrotagar den anderen Buntplatten bei weitem überlegen und entsprach den gestellten Anforderungen am besten, wobei auf der Gaßnerplatte und dem Drigalski-Conradi-Nährboden die Fleischvergifterkolonien nicht mehr wahrzunehmen waren, da auf den Gaßnerplatten zahlreiche andere gelbwachsende und auf den Drigalskiplatten zahlreiche blauwachsende Kolonien das Ablesen oder Herausfinden der Fleischvergifterkolonien nicht mehr ermöglichten. Die guten Eigenschaften des Brillantgrün-Phenolrotagars bei primären Aussaaten veranlaßten sie, ihn auch in Zusammenarbeit mit verschiedenen Anreicherungsnährböden einer Prüfung zu unterziehen. In jedem Falle hatten sie mit dem Brillantgrün-Phenolrotagar bessere Ergebnisse als mit dem Malachitgrünagar. An Hand der ausgeführten zahlreichen Versuchsreihen kommen Verff. zu dem Schluß, daß der Brillantgrün-Phenolrotagar in der von Kauffmann angegebenen Zusammenstellung einen Nährboden darstellt, der durch seine große Auslesefähigkeit, sein starkes Hemmungsvermögen gegenüber Nebenkeimen, insbesondere gegen Bact. proteus, und den intensiven Farbausschlag der Fleischvergifterkolonien alle übrigen gebräuchlichen Auslesenährböden übertrifft. Es wird daher empfohlen, den Malachitgrünagar nach Löffler in der bakteriologischen Fleischuntersuchung durch den Brillantgrün-Phenolrotagar zu ersetzen. Ferner kann für die Untersuchung von Fleisch und Fleischwaren auf Fleischvergifter die Anreicherung in Tetrathionatbouillon nach L. Müller mit anschließender Beimpfung einer Brillantgrün-Phenolrotagarplatte mit größtem Erfolg benutzt werden.

B. Zweck der vorliegenden Arbeit

Meine Aufgabe war es, in vergleichenden Untersuchungen den Wert des Brillantgrün-Phenolrotagars gegenüber der Malachitgrünagarplatte nach Löffler bei unmittelbarer Aussaat zu prü-

fen. Als weiterer Vergleichsnährboden wurde außerdem jeweils nach Belieben eine der Buntplatten nach v. Drigalski-Conradi, nach Gaßner und nach Endo benutzt. Da bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung sich besonders häufig Koli-, Proteus- und Kokkenarten störend auf den Platten bemerkbar machen, wurde das Auslese- und Hemmungsvermögen der verschiedenen Nährböden insbesondere gegenüber diesen Bakterienarten untersucht.

In 5 Versuchsreihen, 72 Haupt- und 50 Nebenversuchen wurde das Verhalten der Brillantgrün-Phenolrotplatte, der Malachitgrünplatte und der anderen Buntplatten geprüft. Es wurden angestellt:

a) Versuche mit Bakterienaufschwemmungen.
   1. Versuche mit Koli-Fleischvergiftergemisch.
   2. Versuche mit Proteus-Fleischvergiftergemisch.
   3. Versuche mit Kokken.

b) Versuche mit postmortal infiziertem Fleisch.
   4. Versuche mit infiziertem Hackfleisch.
   5. Versuche mit infizierten Muskel- und Organproben.

C. Nährböden

1. Brillantgrün-Phenolrotagar.

Kauffmann, bzw. Schönberg und Wiidik geben folgende Zusammensetzung des Brillantgrün-Phenolrotagars an:

Fleischextraktagar als Grundlage:

Liebigs Fleischextrakt ½%, Pepton Riedel 1%, NaCl ½%, Laktose 1,5%.

Phenolrotlösung 4% (40 ccm NaOH 1/10 n + 460 ccm Aqua dest. + 1 g Phenolrot).

Brillantgrünlösung ½% ig (Höchst cryst. extra) 1,5 ccm pro Liter.

Agar 2,5% ——— pH 7,0 — 7,2.

Brillantgrün Höchst cryst. extra war im Handel nicht mehr erhältlich. Nach Angabe des Lieferanten wird es nicht mehr hergestellt. Statt dessen verwandte ich zu meinen Versuchen das Brillantgrün (Standardisierter Farbstoff „Bayer" H 54) von Dr. K. Hollborn u. Söhne, Leipzig, vorm. Grübler. Die Agarkonzentration mußte auf 1,6 — 2% ermäßigt werden, je nach Sorte und Qualität.

Im Laufe meiner Versuche benutzte ich außerdem einen Nährboden mit einem Zusatz von 1,3 statt 1,5 ccm der 1%igen Brillantgrünlösung je Liter.

Von den Farbstoffen wurden jeweils 100 ccm als Stammlösungen hergestellt und vor Licht geschützt und gut verschlossen aufbewahrt. Das dem Nährboden als Farbenindikator zugesetzte Phenolrot (Phenolsulfophthalein) stammte ebenfalls von Dr. K. Hollborn u. Söhne, Leipzig. Farbumschlag alkalisch → sauer: leuchtend rot → farblos bis gelb.

Der unverändert bleibende Brillantgrüngehalt des Nährbodens beträgt bei einem Zusatz von 1,5 ccm je Liter etwa 1 : 133 000 und von 1,3 ccm je Liter rund 1 : 154 000. Der Verbrauch an Brillantgrün ist unbedeutend. Eine einmal hergestellte Vorratslösung hält deshalb recht lange vor. (100 ccm Stammlösung reichen für etwa 60 –80 Liter Agar!) Im Gegensatz zu Malachitgrün ließ sich innerhalb eines Vierteljahres keine wesentliche und spürbare Änderung der Brillantgrünwertigkeit feststellen.

Frisch gegossen und unbeimpft haben die Brillantgrün-Phenolrot-Agar-Platten einen zart resedagrünen Farbton. Die Platten mit 1,3 Brillantgrünzusatz sind etwas gelblicher getönt. Bei längerem Lagern nehmen beide Platten einen bräunlichen Ton an.

Fleischvergifter wachsen intensiv leuchtend rot, bei genügender Bebrütungsdauer (etwa 21 Stunden). Bei Koliwachstum kommt durch das Farbloswerden des Phenolrot die Eigenfarbe des Brillantgrüns gut zur Geltung: Kolikolonien und ihre Umgebung sind daher grün.

Die Einstellung des pH-Wertes erfolgte, wie allgemein üblich, nach dem kolorimetrischen Verfahren unter Benutzung des Komparators nach Michaelis.

Der frisch bereitete, heiße Agar wurde, ebenso wie die anderen, zur bequemeren Weiterverwendung in 100 ccm Erlenmeyer-Kolben gefüllt, gut mit Wattestopfen verschlossen und im Schrank aufbewahrt. Beim Gießen überzählige Platten kamen in den Eisschrank und wurden so bald als möglich verbraucht.

2. Malachitgrünagar.

Der Malachitgrünagar nach Löffler wurde nach folgender Vorschrift[1] hergestellt:

10 g Nutrose wird zu 1000 ccm heißem Nähragar hinzugegeben und aufgekocht. Der Nutrose-Agar ist unter Benutzung des Komparators nach Michaelis auf pH 7,2 einzustellen. Kurz vor

1. s. R. Standfuß: Bakt. Fleischbeschau, 3. Aufl. S. 145.

Gebrauch des Agars stellt man sich eine 0,2%ige Lösung von Malachitgrün Höchst (kristallisiert und chemisch rein) her und fügt von dieser Lösung unter ständigem Umschütteln so viel zu dem auf etwa 50° C abgekühlten Nutrose-Agar hinzu, wie nach einer Probetitration nötig ist, um das Wachstum von Bact. coli zu verhindern, ohne gleichzeitig das Wachstum der Fleischvergifter zu beeinträchtigen.

Diese Forderung aber wird, wie bekannt, in dieser Vollkommenheit praktisch nie erreicht.

Um den Verhältnissen der praktischen bakteriologischen Fleischuntersuchung möglichst gleichzukommen, wurde zu meinen Versuchen genau der gleiche Malachitgrünagar genommen, wie er auch für die laufenden Institutsuntersuchungen üblich war. Der Malachitgrüngehalt wurde etwa einmal monatlich durch das Institut geprüft und schwankte zwischen rund 1 : 5000 und 1 : 7150.

3. Lackmus-Laktose-Agar nach v. Drigalski-Conradi, Fuchsin-Laktose-Agar nach Endo und Wasserblau-Metachromgelb-Agar nach Gaßner wurden in der üblichen Zusammensetzung verwendet.

D. Eigene Versuche und ihre Ergebnisse

a) Versuche mit Bakterienaufschwemmungen.

1. Versuche mit Koli-Fleischvergiftergemisch.

Die ersten Versuche wurden gemacht, um die Auslesefähigkeit der beiden zu vergleichenden Nährböden, der Malachitgrünagarplatte nach Löffler und der Brillantgrün-Phenolrotagarplatte, gegenüber einem Koli-Fleischvergiftergemisch zu prüfen. Als weiterer Vergleichsnährboden wurde jeweils ganz nach Belieben eine der Buntplatten nach v. Drigalski-Conradi, nach Gaßner und nach Endo benutzt.

Die Kolibakterien stellen, wie längst bekannt, keine genau abgegrenzte und einheitliche Bakterienart dar, sondern eine „Koli-Gruppe" mit einer Anzahl verschiedener Spielarten. Weder ihr biochemisches Verhalten gegenüber Laktose, Glukose und mehrwertigen Alkoholen, noch ihr Indolbildungsvermögen oder ihre pathogenen Fähigkeiten ergeben ein einheitliches und übereinstimmendes Bild.

Immerhin gelten für alle typischen Koliarten folgende Merkmale: gramnegative, sporenlose kurze Stäbchen mit abgerunde-

ten Enden, coli schwach beweglich, coli aerogenes unbeweglich. Milchzucker wird stets, Saccharose häufig, unter Säure- und Gasbildung zerlegt. Mannit +, Indol +.

Alle auf Malachitgrün- und Brillantgrün-Phenolrot-Agar gewachsenen Kolistämme wurden sowohl auf ihr biochemisches Verhalten in der sogenannten kleinen bunten Reihe[1], als auch mikroskopisch im hängenden Tropfen auf Beweglichkeit und im Gram-Ausstrich geprüft.

Als Kolistämme wurden zu meinen Versuchen grundsätzlich nur solche genommen, die aus den täglich anfallenden bakteriologisch untersuchten Proben auf Malachitgrünagar gewachsen und sich daher als besonders wachstumsfreudig und widerstandsfähig erwiesen. Bei der reichlichen Zahl der anfallenden Proben konnten immer wieder ohne Schwierigkeiten ganz frische Stämme gewonnen werden.

Als Fleischvergifter wurden 4 geprüfte Salmonellastämme gewählt: je ein Breslau-, ein Schottmüller-, ein Gärtner-Jensen- und ein Suipestifer-Stamm. Zur Prüfung auf gutes Wachstum wurde bei jedem Versuch je eine Malachitgrün-, eine Brillantgrün-Phenolrot- und eine Buntplatte in Reinkultur mit dem betreffenden Fleischvergifterstamm beimpft.

Die Fleischvergifter befanden sich in den Gemischen in der Minderheit. Die Gemische wurden in der Weise hergestellt, daß zunächst einmal je eine Normalöse Koli und Fleischvergifter in je der gleichen Menge (10 ccm) steriler physiologischer (0,85%) Kochsalzlösung sorgfältig abgeschwemmt wurden. Mit sterilen Pipetten wurde sodann eine dem jeweils gewünschten Verdünnungsgrad entsprechende Menge der Fleischvergifteraufschwemmung (wenn nötig unter Benutzung von einer oder zwei eingeschalteten Zwischenverdünnungen) zur 10 ccm Koliaufschwemmung gegeben und gründlich gemischt. Die angewandten Verdünnungen (Koli: Fleischvergifter) waren: 10 : 1, 30 : 1, 100 : 1, 1000 : 1, 5000 : 1, 10000 : 1 und 50000 : 1.

Die zur Aussaat des Gemisches benutzte Oese wurde dreimal auf den Agar aufgetupft, bis sie leer war und das Gemisch mit der Kuppe eines sterilen Doppelröhrchens[2] in der im hiesigen

1. Bestehend aus folgenden Bestimmungsnährböden: 1. Milchzucker-, 2. Saccharose-, 3. Mannitnährboden, 4. Trypsinbouillon für die Indolprobe. Milchzucker und Saccharosenährboden wurden zum Nachweis der Gasbildung mit Gärröhrchen beschickt. (Herstellung s. bei Standfuß: Bakt. Fleischbeschau, 3. Aufl., S. 146—147.

2. Doppelröhrchen: Uhlenhuthsches Präzipitationsröhrchen, das in einem Reagensröhrchen eingeschlossen und entkeimt ist. Ausstreichen mit der keimfreien Kuppe d. Doppelröhrchens bequemer als mit Drigalskispatel.

Institut üblichen Weise ausgestrichen (s. bei Standfuß: Bakt. Fleischbeschau, 3. Aufl., S. 104), daß zuerst die Hälfte der Platte beimpft wurde und dann (immer in den zuletzt bestrichenen Teil zurückgehend) das dritte und vierte Viertel, so daß ein mehrfach verschiedener Verdünnungsgrad in der Aussaat erreicht wurde. Hierbei werden besser Einzelkolonien erhalten und unterschieden.

Abgelesen bzw. geprüft wurden die Platten nach etwa eintägiger (etwa 21 Std.) Bebrütungsdauer (bei 37° C). Weiter aufbewahrt wurden sie bei Zimmertemperatur im Schrank unter Lichtabschluß.

Die Prüfung der gewachsenen Kolonien erfolgte, wie bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung auch, vermittels Objektträgeragglutination gegenüber einem P.A.-Mischserum folgender, im hiesigen Institut üblicher Zusammensetzung:

Karbol-NaCl-Lösung	4,5 ccm
(phys. NaCl-Lösung m. 0,5% Phenolzus.)	
Schottmüller B polyvalent	0,06 ccm
Breslau polyvalent	0,07 ccm
Gärtner	0,14 ccm
Suipestifer	0,13 ccm
Newport	0,05 ccm
Brandenburg	0,05 ccm

Dieses Mischserum mit der gleichen Menge karbol. physiol. Kochsalzlösung verdünnt bewährte sich sehr gut. Beim Zusammenbringen mit Fleischvergiftung trat Agglutination rasch und deutlich ein. Vereinzelt wurden auch, stichprobenweise, die verschiedenen spezifischen Seren zur Prüfung herangezogen.

Die Zahl der Probeagglutinationen betrug durchschnittlich 10—15 je Platte.

Der Grad der Bewachsung der Platten wurde auf den Versuchsniederschriften in der im Institut gebräuchlichen folgenden Weise gekennzeichnet: Fleischvergifter wurden durch gelbe Pluszeichen und Kolikeime rot dargestellt. Ein Befund bis etwa 20 Kolonien wurde durch ein kleines Plus wiedergegeben, 20—50 Kolonien durch ein großes Plus und der stärkste Grad der Bewachsung durch drei große Plus. Was zwischen diesem stärksten Grad und einem großen Plus lag, wurde durch zwei große Pluszeichen angedeutet[1].

1. Bei der Drucklegung wurden aus technischen Gründen die farbigen Pluszeichen wie folgt geändert bzw. ersetzt:
+ - = Koli
+ = = Fleischvergifter
# = = andere (Proteus u. dgl.)

Die folgenden Übersichten 1—7 wurden gruppenweise je nach dem Mischungsverhältnis Koli: Fleischvergifter (10 : 1, 30 : 1, 100 : 1, 1000 : 1, 5000 : 1, 10000 : 1, 50000 : 1) zusammengestellt. Trotz Zusammenfassung in Gruppen muß jeder Versuch für sich als etwas Geschlossenes betrachtet und bewertet werden. Jede Vergleichsmöglichkeit ist nur bedingt, denn die einzelnen Faktoren wechseln von Versuch zu Versuch. Die Wuchs- und Widerstandskraft der Kolistämme ist von Fall zu Fall verschieden, die Wertigkeit des Malachitgrüns ändert sich, und schließlich sind noch rein technische Dinge (z. B. verschiedener Trocknungszustand der Platten usw.) von nicht unerheblichem Einfluß auf manches Ergebnis, obwohl so sorgfältig und relativ gleichmäßig wie möglich gearbeitet wurde. Trotz diesen Einschränkungen läßt sich jedoch aus den Übersichten ein sehr gutes Bild gewinnen.

Übersicht 1. 10 : 1 (Koli: Fleischvergifter)

Vers. Nr.	Salm. Stamm	Malachitgrün (Gehalt)	Brillantgrün 1,5	Buntplatte
1	Bresl.	7150 + + + (7 −, 3 +)	+ + +	D + + + +
13	Scho.	6250 + + + + (7 −, 1 +)	+ + +	G + + + + (15 Scho.)
3	Gä. J.	6670 —	+ + + +	D + + +
8	Suip.	6670 —	+ + + +	E + + + + (4 Suip.)

Übersicht 2. 30 : 1

2	Bresl.	7150 + + + + (10, 1 +)	+ + +	D + + + +
14	Scho.	6250 + + + + (18 −, 1 +)	+ + +	G + + + + (1 Scho.)
4	Gä. J.	6670 —	+ + +	D + + +
9	Suip.	6670 —	+ + +	E + + +

Übersicht 3. 100 : 1

20	Bresl.	5000 + + + (15 −)	2 Koli + + + +	G + + + + (6 Bresl.)
15	Scho.	6250 + + + + (11 −, 1 +)	3 Koli + +	G + + +
5	Gä. J.	6670 + + +	+ + + +	D + + +
10	Suip.	6670 —	+ + +	E + + +

Übersicht 4. 1000 : 1

Vers. Nr.	Salm. Stamm	Malachitgrün (Gehalt)	Brillantgrün 1,5	Buntplatte
21	Bresl.	5000 + + +	+ +	G + + +
			4 Koli 16 Bresl.	
16	Scho.	6250 + + +	+ +	G + + +
		10—	1 Koli 8 Scho.	
6	Gä. J.	6670 + + +	+ +	D + + +
		1— 10 Gä. J.	1 Koli 13 Gä. J.	
11	Suip.	6670 —	+ +	E + + +

Übersicht 5. 5000 : 1

22	Bresl.	5000 + + +	+ +	G + + +
		10—	1 Koli 2 Bresl.	
17	Scho.	6250 + + + +	+ +	G + + +
		10— 1+	1 Koli 2 Scho.	
7	Gä. J.	6670 + +	+ +	D + + +
		10— 1 Gä. J.	2 Koli 6 Gä. J.	
12	Suip.	6670 —	+ +	E + + +

Übersicht 6. 10 000 : 1

23	Bresl.	5000 + + +	+ +	G + + +
		10—	4 Koli 3 Bresl.	
18	Scho.	6250 + + +	+ +	G + + +
		10—	7 Koli 5 Scho.	
41	Gä. J.	5000 + + +	+	G + + +
		10—	1 Koli 2 Gä. J.	
42	Suip.	5000 + + +	+ +	G + + +
		10—	1 Koli 6 Suip	

Übersicht 7. 50 000 : 1

24	Bresl.	5000 + + +	—	G + + +
		10—		
19	Scho.	6250 + + +	+	G + + +
		10—	1 Koli	

Anmerkungen: Bresl. = Breslau, Scho. = Schottmüller, Gä.J. = Gärtner-Jensen, Suip. = Suipestifer. Brillantgrün 1,5 = Brillantgrün-Phenolrotplatte mit 1,5 ccm der 0,5%igen Brillantgrünlösung auf 1 Liter Agar. D. = Drigalski-Conradi, G. = Gaßner, E. = Endo.

Bemerkenswert übereinstimmend bei allen diesen 26 Versuchen war das sehr gute Hemmungsvermögen der Brillantgrün-Phenolrotplatte[1] gegenüber allen angewandten Kolistämmen. Nur in einem einzigen Falle (Vers. 4, Übersicht 2) wurde auf B.P.A.

1. Im folgenden abgekürzt: B.P.A. = Brillantgrün-Phenolrotagar. M.A. = Malachitgrünagar.

Koliwachstum mit einem großen Plus bewertet, in 17 Fällen genügte ein kleines + und in den restlichen 8 war sogar überhaupt kein Koliwachstum festzustellen. Selbst bei den Mischungsverhältnissen 1000 –50000 : 1, die praktisch beinahe Reinkulturen gleichkommen, bewegte sich die Zahl der Kolikolonien zwischen 0 bis höchstens 7.

In der Größe waren sie den Fleischvergifterkolonien im allgemeinen gleich, manchmal größer, oft kleiner, immer jedoch durch ihre grüne Farbe deutlich von den roten Fleischvergiftern unterschieden.

Anders dagegen verhielt sich die Malachitgrünplatte. Ein ähnlich gleichmäßig starkes Hemmungsvermögen wie bei B.P.A. ließ sich nicht feststellen. Es ist bemerkenswert, daß in 16 Fällen das Koliwachstum mit +++ und sogar +++ bewertet werden mußte. In 3 Fällen erwies es sich als etwa gleichwertig, während in 7 Fällen M.A. aus unbekannten Gründen insofern versagte, als neben vollständiger Kolihemmung auch gleichzeitig das Fleischvergifterwachstum (in 2 Gä J. – und 4 Suip. Versuchen) völlig unterdrückt wurde.

Während in allen 24 Versuchen bis zu einem Verdünnungsgrad von 10000 : 1 der B.P.A. vorhandene Fleischvergifter klar und einwandfrei erfaßte, versagte M.A. in 13 Fällen ganz. Ferner erwies sich die Notwendigkeit einer Probeagglutination von durchschnittlich 10—15 Kolonien als besonders nachteilig und zeitraubend. In einem Falle (Versuch 14, Übersicht 2), bei dem die Zahl der P.A. probehalber erhöht wurde, wurde erst bei der 19. Agglutination eine Schottmüllerkolonie festgestellt (!). Normalerweise wäre sie wohl also zweifellos übersehen worden. Ein Auffinden von Fleischvergiftern auf stark mit Koli bewachsener Malachitgrünplatte bleibt immer mehr oder weniger Zufall und ist einem Tappen im Dunkeln vergleichbar.

Als äußerste Grenze der Auslesefähigkeit und des Verdünnungsgrades kann wohl praktisch die Verdünnung 10000 : 1 angesehen werden. In dieser Gruppe (Übersicht 6) war die Überlegenheit von B.P.A. über M.A. besonders deutlich. In keinem der 4 Versuche waren auf M.A. Fleischvergifter nachzuweisen (bei je 10 Probeagglutinationen). Mit dem Mischungsverhältnis 50000 : 1 wurden nur 2 Versuche gemacht. Diese Verdünnung liegt jenseits der sicher erfaßbaren Grenze der Auslesefähigkeit auch der Brillantgrünplatte. Selbst in Reinkulturverdünnung wurde kein Fleischvergifter mehr erfaßt.

Die Unterlegenheit der vergleichsweise benutzten Buntplatten nach v. Drigalski-Conradi, Gaßner und Endo war erheblich.

Bis auf eine Ausnahme (Vers 20, Übers. 3 G) versagten sie schon bei einem Mischungsverhältnis von 100 : 1; z. T. schon bei 30 : 1 und in einem Falle (Vers. 3, Übers. 1 D) sogar schon bei 10 : 1. Sie erwiesen sich also auch hier wiederum untereinander als ziemlich gleichwertig, wobei der Gaßnerplatte ein kleines Plus zuzusprechen ist. Auf den Endoplatten zeigten alle Kolistämme die typischen, metallisch kupfern glänzenden Kolonien.

Besondere Erwähnung verdient das Verhalten des Suipestifer-Stammes gegenüber Malachitgrün. Er wurde in allen Fällen (auch in Reinkultur) derart stark gehemmt, daß nach eintägiger Bebrütung auf den Malachitgrünplatten nichts oder nur winzig kleine, kaum sichtbare Kolonien zu erkennen waren. Erst nach 3—4 Tagen entwickelten sich vereinzelt differenzierbare Kolonien. Diese Beobachtung, wenn auch nicht immer so ausgeprägt, steht in Übereinstimmung mit den hiesigen Institutserfahrungen. Um dieser interessanten Erscheinung, die im Schrifttum m. W. nicht oder nicht genügend beachtet ist, weiter nachzugehen, wurden noch 6 andere Suip.-Stämme, die von den Staatlichen Forschungsanstalten Insel Riems freundlichst zur Verfügung gestellt waren, zur Prüfung herangezogen. 4 davon waren Kunzendorf-, 2 Voldagsen-Stämme. Sie wurden sowohl in Reinkultur als auch im Koli-Gemisch (100 : 1) ausgesät. Ergebnisse s. Übers. 8. Malachitgrüngehalt einheitlich 5000.

Übersicht 8. Koli-Gemisch 100 : 1

Nr. Suip.-Stamm	Malachitgrün	Brillantgrün	Buntplatte
25 Kunzdf. 4677	+ + + 15—	+ + + 8	D + + +
26 Kunzdf. 779	+ + + 15—	+ + + 13	D + + +
27 Kunzdf. F	+ + + 15—	+ + + + 8	D + + +
28 Kunzdf. G 27	+ + + 8—	+ 10 (am 2. Tage 8 G 27 nachgew.)	D + + +
29 Voldags. 128	+ + +	+ 1	E + + +
30 Voldags. 226	+ + +	—	E + + +

Das Verhalten der 4 Kunzdf.-Stämme war unterschiedlich. Suip. Kunzdf. 4677 zeigte in Reinkultur auf Malachitgrün- und Brillantgrün-Phenolrotagar einen gleich großen Grad der Bewachsung, wenn auch die Einzelkolonien ziemlich klein waren. Im Gemisch dagegen war B.P.A. einwandfrei überlegen (Kolonien

allerdings ziemlich klein und blaßrot). Suip. Kunzdf. 779 bewies in Reinkultur auf B.P.A. ein bedeutend besseres Wachstum als auf M.A. Im Gemisch war auf der Malachitgrünplatte unter 15 P.A. kein einziger Kunzdf. 779 nachweisbar. Auf B.P.A. waren nur 13 Koli gegenüber [illegible] Kunzdf. gewachsen. In Größe und Aussehen der Kolonien erschienen sie wie Kokken auf Agar. Koli-Kolonien waren vergleichsweise größer. Suip. Kunzdf. F wuchs am besten von allen 4 Stämmen. Auch auf M.A. in Reinkultur sehr gut. Im Gemisch dagegen erwies sich die Brillantgrün-Phenolrotplatte wieder deutlich überlegen. Sehr gut kam der Farbunterschied zur Geltung, die Kolonien waren leuchtend rot und bis 1 mm groß. Suip. Kunzdf. G 27 wurde im Gemisch auf allen Platten gehemmt, auch auf B.P.A. Am 2. Tage wuchsen auf B.P.A. 8 G 27 nach, auf M.A. dagegen nichts. In Reinkultur waren auf B.P.A. winzige, zartrötliche Kolonien gewachsen, dagegen nichts auf M.A. Gutes Wachstum wies er auf der Drigalskiplatte auf.

Die beiden Voldagsen-Stämme wurden, wie erwartet, von beiden Platten vollständig gehemmt. Auch auf Endo wuchsen in Reinkultur nur winzig kleine Kolonien.

Brillantgrün-Phenolrotagar zeigte sich also in keinem Falle der Malachitgrünplatte unterlegen, im Gemisch sogar deutlich überlegen.

In einigen, wenigen Fällen konnte eine weitere interessante Beobachtung gemacht werden. Ein Kolistamm zeigte in Reinkultur auf B.P.A. ein verhältnismäßig gutes Wachstum, wenn auch bei weitem nicht so stark, wie auf M.A. Im Gemisch dagegen - das ist das Bemerkenswerte und als spezifischer Vorzug des Brillantgrün-Phenolrotagars zu bewerten — wurden die gleichen Koli-Bakterien selbst bei sehr großer Übermacht regelmäßig ganz oder fast ganz, bis auf einige wenige sofort kenntliche Kolonien, unterdrückt. Auf M.A. und den anderen Buntplatten dagegen nicht.

Da die Größe der auf B.P.A. gewachsenen Fleischvergifterkolonien in vielen Fällen nicht restlos befriedigte, wurden Versuche mit Änderung der Brillantgrünkonzentration gemacht. Bei der außerordentlich starken Wirksamkeit des Farbstoffes konnte naturgemäß der Zusatz nur innerhalb geringer Grenzen geändert werden. Zu wenig durfte nicht zugesetzt werden, sonst war die hemmende Wirkung auf Kolibakterien zu gering. Am besten erwies sich ein Zusatz von 1,3 (statt 1,5) ccm Brillantgrün auf 1 Liter Agar. (In den ferneren Versuchen wurde neben Brillantgrün 1,5 stets Brillantgrün 1,3 zum Vergleich benutzt.)

Übersicht 9. 10000 : 1

Nr.	Stamm	Malachitgr.(5000)	Brillantgr.1,5		Brillantgr.1,5		Gassner
39	Bresl.	+ + +	+	+		+	+ + +
			4	3		4	
40	Scho.	+ + + +	+	+	+	+	+ + +
		12— 3 Scho.	4	5	2	4	
41	Gä. J.	+ + +	+	+	+	+	+ + +
			1	2	2	4	
42	Suip.	+ + +	+	+	+	+	+ + +
			1	6	3	1	

Die Fleischvergifter waren merklich größer und im Farbton besser als auf Brillantgrün 1.5. Das Koliwachstum war nicht wesentlich stärker, was auch aus vorstehender Übersicht 9 ersichtlich ist.

In allen 34 Versuchen, die mit einem Koli-Fleischvergiftergemisch gemacht wurden, zeigte sich der Brillantgrün-Phenolrotagar in Bezug auf Auslesefähigkeit und Hemmungsvermögen gegenüber Koli der Malachitgrünagarplatte überlegen. Besonders bestechend war dabei sein weiterer, so außerordentlich bequemer Vorzug, Fleischvergifter und etwa gewachsene Kolikolonien durch einen deutlichen Farbunterschied zu kennzeichnen. Fleischvergifter wuchsen blaßrot bis leuchtend rot, teilweise bläulich rot. Vereinzelt gewachsene Kolikolonien waren grün. Dem im Vergleich zu Malachitgrün auffallend überlegenen Vorzug eines sehr starken Hemmungsvermögens gegenüber Koli (in keinem einzigen Falle war auf B.P.A. das Koliwachstum stärker als +, dagegen auf M.A. in mehr als der Hälfte + + +!) stand aber andererseits als nicht unerheblicher und nicht zu verkennender Nachteil die Tatsache gegenüber, daß der Brillantgrün-Farbstoff das Wachstum auch der Salmonella-Stämme verhältnismäßig stark hemmte. Im allgemeinen erwies sich eine Bebrütungsdauer von etwa 21 Stunden als notwendig, um genügend große und differenzierbare Kolonien zu erhalten. Auch nach dieser Zeit waren die größten Fleischvergifterkolonien noch nicht größer als etwa 1 mm im Durchmesser. Am besten wuchs der Schottmüller-Stamm, etwas schwächer der Breslau-, während der wieder etwas schwächer wachsende Gärtner-Jensen- und der Suipestifer-Stamm etwa gleiche Größe erreichten. Die auf den Buntplatten gewachsenen, gleich lang bebrüteten Fleischvergifterstämme waren stets um etwa das Doppelte bis Dreifache größer. Bedingt durch ihre Kleinheit war naturgemäß der Farbton der Fleisch-

vergifterkolonien nicht immer so ideal leuchtend rot. Dieses prächtige intensive Rot, zuweilen mit einem bläulichen Einschlag, war nur bei solchen Kolonien festzustellen, die mindestens 1 mm groß waren. Bei kleineren nur dann, wenn sie in Gemeinschaft dichter beieinander lagen, wobei auch der Nährboden zwischen und in der Umgebung der Kolonien rot verfärbt war. Vereinzelt liegende, kleinere Fleischvergifterkolonien waren stets weniger rot. Immerhin hob sich ihr blasseres Rot deutlich gegenüber etwaigen grünen Kolikolonien ab. Bei einigen Versuchen waren die Fleischvergifter nicht ohne weiteres auf den ersten Blick zu erkennen. Sie waren höchstens $\frac{1}{2}$ mm groß und in der Durchsicht ziemlich hell, nahezu ohne Eigenfarbe. In der Schrägsicht dagegen waren auch sie sofort erkenntlich durch einen leicht rötlichen Schimmer bzw. Hof um die Kolonie. Bei der Prüfung der auf Brillantgrün-Phenolrotagar und Malachitgrünagar gewachsenen Kolistämme auf ihr biochemisches Verhalten in der kleinen bunten Reihe erwies sich ein verhältnismäßig großer Teil von ihnen als indolnegativ. Eine Beobachtung, die sich in Übereinstimmung mit den Feststellungen von Dienert befindet, wonach dem Bact. coli von allen Eigenschaften die Fähigkeit der Indolbildung zuerst verlorengeht. Die Diagnose „Kolibakterien" wurde auf Grund der Beweglichkeitsprüfung, des Gramausstriches und des übrigen eindeutigen biochemischen Verhaltens in jedem Falle gesichert.

2. Versuche mit Proteus-Fleischvergiftergemisch.

In allen 12 Versuchen wurde mit nur einem Proteusstamm gearbeitet. Es wurde nur ein solcher genommen, der sich schon durch das kennzeichnende breite, etagenförmige Ausschwärmen auf Drigalski und Endo sowie durch seinen stinkenden Geruch als Proteus zu erkennen gab. Außerdem wurde sein Verhalten gegenüber der kleinen bunten Reihe, im hängenden Tropfen und im Gram-Ausstrich geprüft.

Die Arbeitsweise war grundsätzlich die gleiche wie bei den Versuchen mit Kolibakterien. In 12 Versuchen wurde lediglich noch mit den Mischungsverhältnissen Proteus: Fleischvergifter 100 : 1, 1000 : 1, 10 000 : 1 gearbeitet.

Die Reinkulturaussaat von Proteus wurde insofern anders gemacht, als die Oese Proteusaufschwemmung in die Mitte der Platte kreuzweise ausgeimpft wurde. Das charakteristische Schwärmen von Proteus sollte dadurch besser zur Geltung und zur Beobachtung kommen.

Übersicht 10. 100 : 1

Nr.	Stamm	Malachitgr.(5000)	Brillantgr. 1,5	Drigalski
32	Bresl.	+ (2 Bresl.)	+ +	# # #
31	Scho.	+ +	+ +	# # # + (1 Scho)
33	Gä. J.	+ (5 Gä. J.)	+ +	# # # + (10 Gä. J.)
34	Suip.	+ + +	+ + +	# # # + (2 Suip.)

Übersicht 11. 1000 : 1

35	Bresl.	+	+ +	# # #
36	Scho.	+ +	+ +	# # #
37	Gä. J.	—	+	# # #
38	Suip.	+	+ +	# # #

Übersicht 12. 10000 : 1

Nr.	Stamm	Malachitgr.(5000)	Brillantgr.1,5	Brillantgr.1,3	Endo
43	Bresl.	# (10 Prot.) + (1 Bresl.)	—	—	# # #
44	Scho.	# (2)	—	+ (1 Scho.)	# # #
45	Gä. J.	# (1)	—	—	# # #
46	Suip.	# (1)	+ (1 Suip.)	+ (2 Suip.)	# # #

In allen Versuchen waren die benutzten Drigalski- und Endoplatten vollkommen und ungehemmt von Proteus überschwärmt. Sämtliche Platten stanken stark. Da sie, durch ihr ebenfalls alkalisches Wachstum, als zu den sogenannten „Blaukeimen" gehörend nicht in jedem Falle und ohne weiteres von Fleischvergiftern unterschieden werden konnten, war Prüfung der Kolonien gegenüber dem P.A.-Mischserum notwendig. Während beim Mischungsverhältnis 100 : 1 (s. Übers. 10) wenigstens noch in 3 Fällen Fleischvergifter nachweisbar waren (bei Vers. 33 wurde das Auffinden der Gärtner-Jensen-Kolonien durch ihre von den Proteuskolonien etwas abweichende Größe und Gestalt erleichtert), gelang dieser Nachweis in allen stärkeren Verdünnungen nicht mehr. In Reinkultur ausgesäte Proteusbakterien hatten auf den beiden Buntplatten alle ein sehr schönes typisches Wachstum. Sehr oft war bereits nach einem Tage die ganze Platte bis

zum Rand mit Schleiern überzogen. M.A. und B.P.A. (sowohl 1,5 als auch 1,3) zeigten ein sehr gutes Hemmungsvermögen gegenüber Proteusbakterien. Ihr Wachstum war, wie aus Übers. 10 und 11 hervorgeht, auf beiden Platten nach eintägiger Bebrütung vollständig unterdrückt. In 4 Fällen jedoch (Übers. 12) waren auf M.A. schon am 1. Tage, wenn auch verhältnismäßig sehr wenige, atypische, morphologisch sich nicht von Koli- oder Fleischvergifterkolonien unterscheidende Proteuskolonien gewachsen. Auf B.P.A. dagegen in keinem einzigen Falle. Schleierbildung war bei diesen auf M.A. gewachsenen Proteuskolonien nach einem Tage nicht festzustellen. Bei längerer Beobachtung ließ M.A. indessen doch eine geringere Hemmkraft als B.P.A. gegenüber Proteus erkennen, eine Erscheinung, die praktisch freilich belanglos ist, weil der Befund am ersten Tage allein entscheidend und wichtig ist. Am zweiten Tage nämlich waren auf fast allen Malachitgrünplatten hier und da Proteuskolonien nachgewachsen. Auf B.P.A. war das, wenn überhaupt, erst nach vier bis sechs Tagen der Fall. Und auch dann blieben sie sehr klein. In Reinkulturausimpfung hatte sich Proteus auf M.A. ebenfalls spätestens nach zwei Tagen zu sichtbaren Kolonien entwickelt. Nach einigen weiteren Tagen war die Schleierbildung sehr gut und typisch vorhanden. Alle Proteuskolonien wiesen ein dunkler grünes, schleimiges Zentrum auf. Auf B.P.A. war Proteuswachstum in Reinkultur nach etwa vier bis sechs Tagen zu bemerken. Schleierbildung nur gering angedeutet. Die Kolonien blieben klein (rot, mit grünlich schimmerndem, schleimigen Zentrum). Vom Zentrum aus stießen strahlig zackige, kurze Ausläufer vor, offensichtlich Ausdruck der kümmerlichen Wachstumsmöglichkeit auf B.P.A.

Im Gemisch waren die Fleischvergifter auf B.P.A. und M.A. auch nach acht Tagen nicht von Proteus überschwärmt. Alle Kolonien waren noch deutlich kenntlich, wie am ersten Tage, allerdings, auf M.A. stärker als auf B.P.A., in vielen Fällen von Proteusschleiern umgeben.

Bemerkenswert ist noch die Feststellung, daß beim Proteus-Fleischvergiftergemisch das Mischungsverhältnis 10000:1 offenbar schon als zu stark anzusehen ist. Das Wachstum der ein oder zwei Fleischvergifterkolonien auf B.P.A. erscheint Zufall. Beachtenswert ist weiter die Tatsache, daß auf B.P.A. das Wachstum der Fleischvergifter in einigen Fällen wesentlich stärker war als auf M.A. Der Suipestiferstamm zeigte in diesen Versuchen ein verhältnismäßig gutes Wachstum auf M.A., freilich nicht so gut wie auf B.P.A.

3. Versuche mit Kokken.

In diesen Versuchen sollte festgestellt werden, ob entsprechend den vorigen Versuchen B.P.A. eine mindestens ebenso große hemmende Wirkung auf das Wachstum von Kokken zeigen würde wie M.A. Diese Erwartung wurde denn auch durch 50 Nebenversuche bestätigt. Es wurde nicht mit einem Kokken-Fleischvergiftergemisch ähnlich wie mit Koli-oder Proteusbakterien gearbeitet, sondern es sollte lediglich festgestellt werden, ob überhaupt Kokkenwachstum auf B.P.A. bzw. M.A. in irgendeinem Falle erfolgte. Es wurden deshalb Kokken, die bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung auf M.A. gewachsen waren (fast ausnahmslos aus Leber und Galle), auf B.P.A. und M.A. überimpft. Die Kokken waren leicht durch ihre charakteristischen kleinen, punktförmigen Kolonien als solche erkenntlich. Außerdem wurde stets die mikroskopische Untersuchung des gefärbten Ausstriches zur Sicherung der Diagnose herangezogen. In keinem einzigen Falle konnte, weder auf Malachitgrün- noch auf Brillantgrün-Phenolrotagar Kokkenwachstum festgestellt werden. In einigen wenigen Fällen konnte auf M.A. nach drei bis vier Tagen das Hervorkommen feinster, an Rotlaufkulturen erinnernde, tautropfenähnlicher Kokkenkolonien beobachtet werden. Die auffallende Tatsache des verhältnismäßig guten Kokkenwachstums auf M.A. bei der ersten Züchtung aus dem Tierkörper ist wohl darauf zurückzuführen, daß bei den Ausstrichen aus der stets feuchten Leber und Galle immer eine eintrocknende, schützende Schicht der Organsubstanz auf dem Malachitgrünagar verbleibt, die den Kokken günstigeres Wachstum ermöglicht.

b) Versuche mit postmortal infiziertem Fleisch.

4. Versuche mit infiziertem Hackfleisch.

Für die Versuche mit Hackfleisch wurden möglichst fett- und faszienfreie Muskelstücke genommen, die bei den eingesandten Fleischproben anfielen und sich als frei von Fleischvergiftern erwiesen hatten. Der Keimgehalt war von Fall zu Fall verschieden. Die Muskelstücke wurden im Wolf zerkleinert und zu je 100 g abgewogen. Dann wurde eine entsprechende Fleischvergifteraufschwemmung hinzugefügt, so sorgfältig wie möglich gemischt und, in Glasbechern zugedeckt (wegen der Verschleppungsgefahr von Keimen durch Fliegen u. dgl.), einige Stunden stehen gelassen. Naturgemäß traten bei der sommerlich hohen Zimmertemperatur sehr bald in dem günstigen Nährboden eine bedeutende Keimvermehrung, hauptsächlich saprophytischer Art.

und dadurch bedingt rasch Fäulnis- und Zersetzungsvorgänge auf. Übergeimpft auf die Platten wurde mit Hilfe von jeweils zwei Doppelröhrchen und zwar in folgender Reihenfolge: 1. Brillantgrün, 2. Malachitgrün, 3. Buntplatte. Gearbeitet wurde mit einer im Verhältnis 100 : 1 verdünnten Fleischvergifteraufschwemmung. (1 Normalöse in 10 ccm phys. NaCl-Lösung aufgeschwemmt, davon 0,1 ccm + 9,9 ccm phys. NaCl-Lösung.) Dadurch, daß die Fleischproben vor der Zerkleinerung zu Hackfleisch schon einige Zeit gestanden hatten und bei der Weiterverarbeitung nicht keimfrei gearbeitet wurde, veränderte und erhöhte sich auch der ursprüngliche Keimgehalt, was nicht unerwünscht war. Einige Vorversuche, in denen das Hackfleisch bis zu 24 Stunden stehen blieb und z. T. einen beinahe unerträglichen Geruch verbreitete, ergaben, daß sowohl M.A. als auch B.P.A. mit resistenten Fäulniskeimen derart stark überwuchert waren, daß Fleischvergifter nicht nachzuweisen waren. Deshalb wurden in den 8 Hauptversuchen Ausstriche aus dem Hackfleisch schon nach 3—6 Stunden gemacht, bevor die Fleischvergifter von den sehr stark sich vermehrenden Fäulniskeimen überwuchert wurden, so daß bei der Aussaat auf die Platten ein einigermaßen vergleichbares Bild erhalten werden konnte. Bei den ersten 4 Versuchen (s. Übers. 13) wurde zu je 100 g Hackfleisch 1 ccm der 100 : 1 verdünnten Fleischvergifteraufschwemmung zugegeben, bei den übrigen 4 Versuchen (s. Übers. 14) 2 ccm.

Übersicht 13. (1 ccm einer 100 : 1 verd. Fleischv. Aufschw. zu 100 g Hackfleisch)

Nr.	Stamm	Malachitgr. (5000)		Brillantgr. 1,5		Brillantgr. 1,3		Drigalski	
47	Bresl.	+	+	+		+	+	+ + + +	
		27 Kol.	5+4—	7+Bresl.		2	10 Bresl.		1 Bresl.
48	Scho.	+	+	+ + +		+ +	+	+ +	
		8 Kol.	5+3—	13 Scho.			9 Scho.		
49	Gä. J.	+		+ + +		+ +	+	+ +	
		11—		2 Gä. J.			3 Gä. J.		
50	Suip.	+	+	+ + +		+ +	+	+ +	
		3—	1+	1 Suip.			3 Suip.		

Übersicht 14. (2 ccm zu 100 g Hackfleisch)

51	Bresl.	—		+		+		+ # +	
				3 Bresl.		16 Bresl.			7 Bresl.
53	Scho.	—	+	+	+	+		+ # +	
			5	13 Scho.	4	7 Scho.			2 Scho.
52	Gä. J.	—	+	+	+	+		+ + # +	
			1	1 Gä. J.	1	3 Gä. J.			7 Gä. J.
54	Suip.	—	+	+	+	+		+ + #	
			19	22 Suip.	9	26 Suip.			

M.A. bewies in den ersten 4 Versuchen ein sehr gutes Hemmungsvermögen gegenüber Begleitbakterien. Die Höchstzahl der zur Entwicklung gekommenen Kolonien auf M.A. betrug einschließlich Fleischvergifter 27 (Vers. 47), dabei waren von 9 P.A. 5+ 4—. Einmal waren 8 Kolonien (5+ 3—) und einmal sogar nur 4 Kolonien (1+ Susp.! 3 –) gewachsen. Lediglich bei Versuch 49 ergaben alle 11 Kolonien negative Agglutination. In den Versuchen 51—54 (Übers. 14) trat allerdings wieder die nachteilige Erscheinung der Wertigkeitsänderung des Malachitgrüns zutage. Bei gleicher Wertigkeit (5000) wie in den vorhergehenden Versuchen war auf keiner Platte ein sichtbares Wachstum festzustellen, auch nicht das von Fleischvergiftern.

Beide Brillantgrün-Phenolrotplatten (1,5 und 1,3) arbeiteten wieder sehr zuverlässig und befriedigend. In jedem Falle gelang der Nachweis der roten Fleischvergifter leicht und mühelos. Bei Vers. 47 und 51 waren sogar Reinkulturen gewachsen. Brillantgrün 1.3 erwies sich, bei praktisch der gleichen Hemmungsfähigkeit gegenüber Koli, insofern bedeutend besser als Billantgrün 1,5 als die Fleischvergifterkolonien alle wesentlich größer und kräftiger rot waren. Am besten kam das bei Versuch 48 zum Ausdruck. Während auf B.P.A. 1,5 die Schottmüller-Kolonien kleiner als Koli und blaß rötlich waren, waren sie auf B.P.A. 1,3 bedeutend größer und schöner (2—3 mm), von prachtvoll leuchtender, kräftig-roter-bläulichroter Farbe und größer als Koli. Überhaupt konnte einheitlich die Beobachtung gemacht werden (die sich bei den späteren Versuchen mit Muskel- und Organstücken ebenfalls bestätigte), daß bei diesen Versuchen die Fleischvergifter ein deutlich besseres und schöneres Wachstum zeigten als bei den Versuchen mit Aufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung.

Eine nachteilige Eigenschaft des B.P.A. gegenüber M.A. konnte in den Versuchen 48, 49 und 50 festgestellt werden. Neben den verhältnismäßig wenigen, allerdings durch ihre Farbe sofort kenntlichen Fleischvergifterkolonien zeigten die Platten in den 3 Fällen ein ziemlich starkes (++) Koliwachstum. Die etwas kleineren (auf Brillantgrün 1,3) grünen, schleimigen Kolonien zeigten häufig eine Neigung zum Zusammenfließen. Am 2. Tage war das schleimige Zusammenfließen noch ausgeprägter und die Fleischvergifterkolonien z. T. ganz, z. T. bis auf einige wenige überwuchert und im Farbton stark abgeblaßt. Auf Malachitgrün dagegen war kein derart starkes Koliwachstum festzustellen. Die Vermutung, daß es sich um Bact. coli aerogenes handeln könnte, wurde durch die genaue Artbestimmung bestätigt.

Im Milchzucker-, Saccharose-, Mannit- und Indol-Nährboden verhielt es sich positiv, zeigte im negativ gefärbten Gram-Ausstrich morphologisch die gleiche Form wie Kolibakterien und erwies sich im hängenden Tropfen als unbeweglich. Die Beobachtung von Jones, wonach Bact. coli aerogenes durch Brillantgrün nicht gehemmt wird, konnte also bestätigt werden. Diese mangelnde Fähigkeit des B.P.A. kann sich u. U. störend bemerkbar machen. Versuche, Bact. coli aerogenes auf M.A. zur Entwicklung zu bringen, gelangen nicht.

Die Drigalskiplatten zeigten wiederum durchweg einen sehr hohen Keimgehalt. Neben starkem Koliwachstum waren auch recht viele Blaukeime zur Entwicklung gekommen, ferner Kokken. Bei so starkem Auftreten von Blaukeimen war das Auffinden von Fleischvergiftern nicht immer leicht und manchmal dem Zufall zu verdanken. Immerhin gelang, wenn auch unter Schwierigkeiten, in 4 von 8 Versuchen der Nachweis von Fleischvergiftern.

5. Versuche mit infizierten Muskel- und Organproben.

In der letzten Reihe der Versuche wurde unter Bedingungen gearbeitet, die den natürlichen Verhältnissen bei der bakteriologischen Fleischbeschau möglichst nahekommen sollten. Von bereits untersuchten Fleischproben wurden etwa gleich große Stücke Muskulatur (Mu), Milz (Mi) und Leber (Le) genommen. Mit einer vorher ausgekochten Pravazspritze (2 ccm fassend) mit langer Nadel wurden 2 ccm einer verdünnten (100 : 1) Fleischvergifteraufschwemmung in die Muskel- bzw. Organstücke möglichst gleichmäßig an mehreren Stellen eingespritzt. Sie blieben etwa 4 Stunden stehen. Dann wurde, genau wie bei der bakteriologischen Fleischuntersuchung auch, nach Abbrennen der Proben mit keimfreien Instrumenten etwa bohnengroße Stücke entnommen und ausgestrichen. Wie bei den Versuchen mit Hackfleisch wurde beim Ausstreichen auf die Platten die gleiche Reihenfolge gewählt: also zunächst Brillantgrün, dann Malachitgrün und zuletzt die Buntplatte. Insgesamt wurden 18 Versuche angesetzt (s. Übersicht 15, S. 31).

Nr.	Organ und Stamm	6670 Malachitgr.	Brillantgr.1,5	Brillantgr.1,3	Buntplatte
55	Mu-Scho.	(5000) —	+ +	+ 33 Scho.	G + + + +
56	Mi-Scho.	(5000) —	+ + +	+ + +	G + + + + 3 Rand Scho.
57	Le-Scho.	(5000) —	(nicht verwendet)	+ + +	G + + +
58	Mu-Suip.	+ + + 2 — : 8 +	+ + +	+ + +	D + + #
59	Mi-Suip.	+ + 2 — : 4 +	+ + + (aerogenes)	+ + + (aerogenes)	D + + #
60	Le-Suip.	+ + + 8 — : 2 +	+ + + 6 Suip.	+ + +	D + + #
61	Mu-Gä.J.	+ 1	+ + +	+ + + 15	D + # +
62	Mi.Gä.J.	+ 2	+ + +	+ + +	D + # +
63	Le-Gä.J.	(+ + +)	(+ + +)	(+ + +)	D (+ + +)
64	Mu-Bresl.	—	+ + 2 3 Bresl.	+ + 3 5 Bresl.	D + # # + 1 Bresl.
65	Mi-Bresl	+ + 5 5 Bresl.	+ +	+ +	D + + # + 2 Bresl.
66	Le-Bresl.	+ + 8 — : 2 +	+ + +	+ + +	D + + # + 1 Bresl.
67	Mu-Scho.	+ +	(nicht verwendet)	+ +	G + +
68	Mi-Scho.	+ 33 Kolonien : 10+	(nicht verwendet)	+ + + + 8	G + + +
69	Le-Scho.	+ + + 10 — : 1 +	(nicht verwendet)	+ + + + 2 Scho.	G + + + +
70	Le-Bresl.	+ + + 10 — : 3 +	(nicht verwendet)	+ + + 14 Bresl.	G + + + +
71	Le-Gä.J.	+ + 15 —	(nicht verwendet)	+ + + + 2 Gä.J.	G + + + +
72	Le-Suip.	+ + 15 —	(nicht verwendet)	+ + + + 2 Suip.	G + + + +

Die Versuche 55—57 mit Schottmüller wurden, nachdem sich eine Änderung der Malachitgrünwertigkeit von 5000, die 4 Wochen angewandt worden war, als notwendig erwiesen hatte (auch in Reinkultur wuchsen keine Fleischvergifter mehr), unter Nr. 67—69 noch einmal mit dem neuen Wert (6670) angestellt. Ferner wurde bei den letzten 4 Versuchen mit Leber allein die Einspritzmenge auf 1 ccm beschränkt, weil bei 2 ccm der an sich schon große Feuchtigkeitsgehalt der Leber derart stark wurde, daß die brüchig und breiig gewordene Parenchymmasse beim Ausstreichen eine ziemlich dicke und geschlossene Substanzschicht auf dem Agar bildete, die die besten Bedingungen für ein

reiches Bakterienwachstum gewährte und dadurch zu ungenauen Ergebnissen führte. Aber auch bei einer Menge von 1 ccm war kaum eine Besserung zu erkennen. Hinzu kam, daß ja die Lebern schon von vornherein den größten Keimgehalt aufwiesen, der durch das längere Stehenlassen im warmen Zimmer nur noch vermehrt wurde. Beim Ausstreichen der Milz bestanden, wenn auch in geringerem Grade, die gleichen Schwierigkeiten.

Die besten Ergebnisse ergaben erwartungsgemäß die an sich schon keimarmen Muskelproben. Hierbei bewährten sich auch die Drigalski- und Gaßnerplatten z. T. sehr gut. Bei Vers. 58 und 64 allerdings waren beide Drigalskiplatten sehr stark mit Koli- und Blaukeimen bewachsen. Das Auffinden der 1 Breslau-Kolonie war Zufall, unter anderen zahlreichen Blaukeimen fiel sie nicht besonders auf. In Versuch 67 waren, ebenso wie auf M.A. und B.P.A. in gleichem Grade (+ +) Schottmüller in Reinkultur gewachsen. Malachitgrünagar verhielt sich bei den Muskelproben sehr unterschiedlich und nur in 2 von 5 Fällen befriedigend. Während es in den Versuchen 55 und 64 aus unbekannten Gründen überhaupt kein Wachstum ergab und in Versuch 61 nur 1 Kolikolonie aufwies, bewies es bei dem Versuch 58 ein sehr gutes Auslesevermögen (8 + 2— Suip.!). In Versuch 67 wuchsen ebenso wie auf B.P.A. und Gaßner Schottmüller-Reinkulturen. Brillantgrün-Phenolrotagar ergab in allen Fällen ganz prachtvolle Zeichnungen. Alle Fleischvergifter aller angewandten Stämme fielen sofort durch ihre ungewöhnliche Größe (2—3 mm) und leuchtende Farbe ins Auge. B.P.A. 1,3 erwies sich dabei wiederum als besser. Auch die Nebenkeime waren sehr gut gehemmt.

Bei den Milzproben war allgemein von vornherein der Keimgehalt höher. Trotzdem konnten auf den Buntplatten in 4 von 5 Fällen Fleischvergifter nachgewiesen werden. In Versuch 56 war Gaßner vollkommen von Koli überwuchert und zum größten Teil schmierig, wies aber 3 gelbe Randstellen auf, die sich als Schottmüller erwiesen. In anderen Fällen erschwerten die z. T. zahlreichen alkalisch wachsenden Keime wiederum die Erkennung sehr. In einem Falle (Versuch 59) gelang auf der sehr stark bewachsenen Drigalskiplatte kein Fleischvergifternachweis.

M.A. verhielt sich ähnlich unterschiedlich wie bei den Muskelproben: In Versuch 56 überhaupt kein Wachstum, in Versuch 62 nur 2 Koli, gut dagegen in Versuch 59 (4+ Suip.! 2—) und 65 (5+ 5 –) und sehr gut in 68 (insgesamt 33 Kolonien, davon bei 10 P.A. keine —). B.P.A. erwies sich wiederum sehr gut und zuverlässig in allen Fällen. Die Farbzeichnung der gut gewachsenen

Fleischvergifter war wieder sehr deutlich. In Versuch 59 war wieder Auftreten von Bact. coli aerogenes zu verzeichnen.

Beim Ausstreichen der Leberproben ergaben sich die bereits oben erwähnten Schwierigkeiten. Während wenigstens noch in den Versuchen 57, 60 und 66 einigermaßen günstige Ergebnisse erzielt wurden, versagten in Versuch 63 alle Platten, auch M.A. und B.P.A. Sämtliche Platten waren vollkommen mit Keimen, z. T. schmierig überwachsen. Einzelkolonien waren kaum festzustellen. In keinem Falle waren Gärtner-Kolonien nachweisbar. Auf B.P.A. war nur ein grüner Farbton zu sehen, auf dem Leberstubstrat sitzend. Bei den letzten 4 Versuchen mit Leber allein (69 –72) wurde aus anfangs angeführten Gründen die Einspritzmenge auf 1 ccm ermäßigt, ohne allerdings eine wesentliche Besserung zu erzielen. Die Buntplatten versagten diesmal bei den Leberausstrichen bis auf eine Ausnahme (Vers. 66, Auffinden der am Rande liegenden Breslau-Kolonie Zufall bei starkem Blaukeimgehalt) völlig. In den Versuchen 69—72 wurde sogar der Keimgehalt der sehr dicht bewachsenen Gaßnerplatten, um den erheblichen Unterschied gegenüber M.A. und B.P.A. zum Ausdruck zu bringen, ausnahmsweise mit + + + + bewertet.

Auch auf M.A. und B.P.A. war der Keimgehalt erheblich größer als sonst. M.A. erwies sich als gut (ohne allerdings B.P.A. überlegen zu sein) in Versuch 60 mit Suipestifer (8— 2+) und 70 (10— 3+), schwächer in 69 (10— 1+), ganz versagend in 57 und 63 (in letzterem Falle allerdings auch B.P.A.) und in 71 und 72 (von je 15 P.A. keine einzige +).

Brillantgrün-Phenolrotagar wies bei den Leberausstrichen einen vergleichsweise höheren Grad der Bewachsung mit Nebenkeimen auf als M.A. In der Hauptsache war das auf Bact. coli aerogenes-Wachstum zurückzuführen. Aber in keinem einzigen der 8 Leberversuche versagte B.P.A. im Fleischvergifternachweis, (ausgenommen der besonders ungünstige Fall 63), während auf M.A. in 3 Fällen Fleischvergifter nicht nachgewiesen werden konnten. Es zeigte sich gerade in diesen Leberversuchen, ein wie großer Vorteil die Fähigkeit des Brillantgrün-Phenolrotagars ist (trotz z. T. größeren Nebenkeimwachstums als auf M.A.), Fleischvergifter durch ihre Farbe anzuzeigen. In den Versuchen 69, 71 und 72 fielen auf den stark grün und teilweise schmierig bewachsenen Brillantgrünplatten die am Rande gelegenen jeweils 2 Kolonien sofort durch ihr Rot auf, wenn auch Gärtner-Jensen und Suipestifer infolge des starken grünen Allgemeintones der Platten ziemlich abgeblaßt waren.

Bemerkenswert bei den Versuchen mit Muskel- und Organausstrichen war die Tatsache, daß Suipestifer auch auf Malachitgrün ein ziemlich gutes Wachstum zeigte; in einem Falle (Vers. 72, in der Vergleichsausimpfung in Reinkultur) dagegen wieder nicht.

Versuche, die mit einigen Intermediusstämmen nebenbei gemacht wurden, ergaben ein gleiches ungehemmtes, rotes Wachstum wie das der Fleischvergifter.

E. Zusammenfassung

1. In allen Versuchen, die mit einem Koli-Fleischvergiftergemisch in physiologischer Kochsalzlösung gemacht wurden, zeigte sich der Brillantgrün-Phenolrotagar in Bezug auf Auslesefähigkeit und Hemmungsvermögen gegenüber Koli der Malachitgrünagarplatte überlegen.

2. Als besonders bequemer Vorzug des Brillantgrün-Phenolrotagars gegenüber dem Malachitgrünagar erwies sich seine Eigenschaft, Fleischvergifter und etwa gewachsene Kolikolonien durch einen deutlichen Farbunterschied zu kennzeichnen. Fleischvergifter wuchsen je nach Größe blaßrot bis leuchtend rot, teilweise bläulichrot. Kolikolonien waren grün oder grüngelblich.

3. Als nicht unerheblicher Nachteil des Brillantgrün-Phenolrotagars stellte sich bei den Versuchen mit Aufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung heraus, daß das Wachstum auch der Fleischvergifterstämme verhältnismäßig stark gehemmt wurde. Im allgemeinen erwies sich eine Bebrütungsdauer von etwa 21 Stunden als erforderlich, um genügend große und differenzierbare Kolonien zu erhalten. Nach dieser Zeit waren auch die größten Fleischvergifterkolonien nicht größer als etwa 1 mm im Durchmesser.

4. Versuche mit Änderung des Brillantgrüngehalts ergaben, daß ein Zusatz von 1,3 (statt 1,5) ccm der 0,5%igen Brillantgrünlösung je Liter besser befriedigte. Bei nur unwesentlich geringerer Hemmungsfähigkeit gegenüber Koli- und sonstigen Begleitbakterien waren die Fleischvergifterkolonien bei gleicher Bebrütungsdauer merklich größer und lebhafter rot.

5. Proteus war in allen Versuchen nach eintägiger Bebrütungsdauer auf Brillantgrün-Phenolrotagar vollständig unterdrückt. Malachitgrünagar zeigte, besonders bei längerer Beobachtungsdauer, ein etwas geringeres Hemmungsvermögen gegenüber Proteus. In 4 Fällen waren bereits am 1. Tage einige wenige

Proteuskolonien, ohne Schleierbildung zu zeigen, gewachsen. Nach spätestens 2 Tagen war auf allen Malachitgrünplatten Proteus nachgewachsen, auf Brillantgrün-Phenolrot, wenn überhaupt, erst nach 4—6 Tagen.

6. Kokkenwachstum konnte in keinem einzigen Falle, weder auf Malachitgrünagar noch auf Brillantgrün-Phenolrotagar festgestellt werden.

7. Bei den Versuchen mit Hackfleisch und Muskel- und Organausstrichen arbeitete der Brillantgrün-Phenolrotagar sehr zuverlässig und befriedigend. In allen Versuchen, mit Ausnahme eines besonders ungünstigen Falles, gelang der Fleischvergifternachweis auf Grund des kennzeichnenden Farbausschlages leicht und mühelos, selbst bei den sehr stark keimhaltigen Leberausstrichen. Die Fleischvergifterkolonien zeigten bei diesen Versuchen auf Brillantgrün-Phenolrotagar ein wesentlich farbkräftigeres und größeres Wachstum (bis zu 3 mm) als bei den Versuchen mit Aufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung.

8. Die Beobachtung von Jones, wonach Bact. coli aerogenes durch Brillantgrün nicht gehemmt wird, konnte bestätigt werden. Die grünen, schleimigen Kolonien zeigten häufig eine Neigung zum Zusammenfließen. Diese mangelnde Fähigkeit des Brillantgrün-Phenolrotagars kann sich unter Umständen sehr störend bemerkbar machen. Versuche, Bact. coli aerogenes auf Malachitgrünagar zur Entwicklung zu bringen, gelangen nicht.

9. Suipestifer wurde, im Gegensatz zu anderen Fleischvergiftern, verschiedentlich von Malachitgrünagar gehemmt. Brillantgrün-Phenolrotagar zeigte sich in keinem Falle der Malachitgrünplatte unterlegen, wenn auch z. T. die Größe der Kolonien wenig befriedigte.

10. Intermediusstämme wurden nicht gehemmt und waren auch auf der Brillantgrün-Phenolrotplatte von echten Fleischvergiftern nicht zu unterscheiden.

11. Malachitgrün verhielt sich sehr unterschiedlich, in einer Reihe von Fällen ganz versagend, dann aber auch wieder sehr gut auslesend. Als mißlich erwies sich, wie bekannt, wiederum die Notwendigkeit der Auswertung und, durch das Fehlen jedes kennzeichnenden Farbunterschiedes, die zeitraubende Mühe einer serologischen Prüfung von oft mehr als 10 Kolonien.

12. In Übereinstimmung mit Schönberg und Wiidik kann der Brillantgrün-Phenolrotagar als ein Nährboden angesehen

werden, der an Ausleseſähigkeit und Hemmungsvermögen gegenüber Nebenkeimen alle übrigen gebräuchlichen Auslesenährböden übertrifft und überdies gegenüber dem Löfflerschen Malachitgrün den Vorzug einer Farbunterscheidung der Fleischvergifter besitzt.

Am Schlusse meiner Ausführungen ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Standfuß für die Überlassung der Arbeit und die mir dabei zuteil gewordene Hilfe zu danken.

F. Schrifttum

1. Asche, H.: Über die Malachitgrünplatte zum Nachweis von Fleischvergiftern. Tierärztl. Rsch. 30, 577 (1936).

2. Jones, E. R.: The use of brilliant green eosin agar and sodium tetrathionate broth for the isolation of organisms of the typhoid group. (Der Gebrauch von Brillantgrün-Eosinagar und Natriumtetrathionatfleischbrühe für die Isolierung von Organismen der Typhus-Gruppe.) J. of Path. 42, 455. Ref. Jahresber. Vet.-Med. 59, 547, (1936).

3. Kauffmann, F.: Über das kombinierte Anreicherungsverfahren für pathogene Darmbakterien. Zschr. Hyg. 119, 233 (1937).

4. Killian, W.: Brillantgrün, seine elektiv-bakterizide Wirkung und seine Verwendung zur Typhus- und Paratyphusdiagnose. Zschr. Hyg. 103, 193 (1924).

5. Kristensen, M., Lester, V. und Jürgens, A.: On the use of trypsinized casein brom-thymol-blue, bromcresol-purple, phenol-red and brillant green for bacteriological media. Brit. J. exper. Path. 6, 291, (1925), Ref. Zbl. Bakter. I. Ref., 82, 142.

6. Rakieten, Morris, L. u. Leo F. Rettger: Brillantgreen and its use in an enrichment medium in the isolation of typhoid and paratyphoid organisms. (Brillantgrün und sein Gebrauch in einem Anreicherungsmedium zur Isolierung von Typhus- und Paratyphusorganismen.) J. of inf. dis. 41, Nr. 2, 93, (1927) Ref. Jahresber. Vet.-Med. 1927, 2, 847.

7. Schönberg, F.: Zum Wert des Malachitgrünagars für die bakteriologische Fleischuntersuchung. Berl. Tierärztl. Wschr. 1934, 458.

8. Schönberg, F. und Wiidik, R.: Zum Wert des Brillantgrün-Phenolrotagars für die bakteriologische Fleischuntersuchung. Berl. Tierärztl. Wschr. 1937, 310.

9. Standfuß, R.: Bakteriologische Fleischbeschau, 3. Aufl., 1936.

10. Verge u. Thieulin: Brillantgrünnährboden bei der Untersuchung der Bakterien der Typhus- und Paratyphus-Gruppe. Ref. Jahresber. Vet.-Med. 1931, 2, 929.

Lebenslauf

Ich, Werner Herbert, wurde am 6. März 1913 in Mülheim (Ruhr) als Sohn des Heinrich Herbert und seiner Ehefrau Anna, geb. Horn, geboren. Nach dreijährigem Volksschulbesuch kam ich Ostern 1922 auf das Staatl. Realgymnasium zu Mülheim (Ruhr) und legte dort am 7. März 1931 die Reifeprüfung ab. Vom Sommer-Semester 1931 bis Sommer-Semester 1936 studierte ich an der Landesuniversität zu Gießen Veterinärmedizin. Am 16. Dez. 1936 bestand ich in Gießen die tierärztliche Staatsprüfung. Anschließend war ich 3 Monate als Praktikant am Schlachthof in Mülheim (Ruhr) tätig.